

A kutatás eredményeit összefoglaló részletes jelentés

Összefoglalás

Pályázati programunkban 48 mangalica kanon GnRH-tesztel vizsgáltuk a tesztikuláris endokrin funkciót. Minden egyedről vérmintát gyűjtöttünk a tesztoszteron alapérték méréséhez. 100 µg GnRH iv. applikálása után 90 perccel újabb vérmintát vettünk a provokált hormonszint meghatározásához. Az állatokat ivartalanítottuk majd mértük a herék térfogatát. Elemezve az életkor, élő súly, heretér fogat, valamint a tesztoszteron termelés közötti kapcsolatokat, gyenge összefüggést állapítottunk meg mind az ivarérett ($r = 0,13$, $P > 0,05$), mind a tenyésztérett ($r = 0,15$, $P > 0,05$) állatok esetében az életkor és a tesztoszteron alapkonzentráció (T alap), valamint az életkor és a kezelés hatására bekövetkezett hormonszint emelkedés mértéke (T incr. %) között ($r = -0,27$, $P > 0,05$, illetve $r = -0,11$, $P > 0,05$). Az életkor és heretér fogat, valamint az élő súly és heretér fogat között közepesen erős összefüggést tapasztaltunk (az ivarérett csoportban $r = 0,51$, $P < 0,05$ és $r = 0,57$, $P < 0,05$; a tenyésztérett csoportban $r = 0,44$, $P < 0,05$ és $r = 0,40$, $P < 0,05$). Szoros negatív korrelációt állapítottunk meg a T alap – T incr. % között (az ivarérett csoportban $r = -0,79$, $P < 0,05$; a tenyésztérett csoportban kevésbé szoros, $r = -0,49$, $P < 0,05$), ugyanakkor számos irodalmi adattal ellentétben gyenge korrelációs értékek mutatkoztak a heretér fogat – T alap, heretér fogat – T incr. % kapcsolatában. Az életkor, élő súly, heretér fogat és a tesztoszteron alapérték – mint független változók – együttes hatását vizsgálva megállapítottuk, hogy a négy vizsgált jellemző a tesztoszteron emelkedés mértékét jelentősen befolyásolja.

Komplex spermatológiai vizsgálataink során összesen 221 ejakulátum kvantitatív és kvalitatív spermajellemzőit értékeltük. Adataink szerint a mangalica sertés esetében az ejakulátum volumen kisebb ($x = 177,8$ ml, $s = 18,92$), az átlagos spermiumkoncentráció (490×10^6 /ml, $s = 160 \times 10^6$ /ml) és az ejakulátumonkénti összes spermium (894×10^8 , $s = 308,1 \times 10^8$) viszont jóval magasabb az intenzív sertésfajták azonos paramétereikhez képest. A vizsgálat sorozatban egyetlen alkalommal mértünk csak 200ml-nél nagyobb ejakulátum térfogatot. A friss ejakulátumok spermium-motilitási eredményei ($x = 75,6\%$, $s = 6,78\%$), mint az alacsony szórásértékek is jelzik, az ejakulátum mennyiséghez hasonlóan kiegyenlített képet mutatnak. A spermium-morfológiai vizsgálatokban figyelmen kívül hagytuk a spermium akroszómájának azon rendellenességeit, amelyek a sperma szállítása, tárolása során keletkezhetnek. A tárolással nem összefüggő öröklődő, súlyos akroszóma rendellenességet (knobbed, ferde akroszóma) nem észleltünk egyetlen ejakulátumban sem. Vizsgálatunkban a proximális plazmacsepp, a spermiumfej- és középrész elváltozásokat alacsony előfordulási arányuk miatt összevontan kezeltük ($x = 2,3\%$). A disztális plazmacseppnek számában minden állatnál nagy eltéréseket, ingadozást tapasztaltunk ($x = 19,6\%$, $s = 7,97\%$). A rendellenességet kisebb jelentősége miatt az összes spermium anomália átlagban ($x = 5,76\%$, $s = 2,20\%$) nem szerepeltettük. Hasonló ingadozást tapasztaltunk – bár jóval alacsonyabb volt az előfordulási arány- a spermium fark anomáliák esetében is ($x = 3,76\%$, $s = 1,88\%$), mint a magas szórás is mutatja.

Sperma eltarthatósági vizsgálatokban több spermahígító összehasonlító értékelését végeztük el a legjobb hígító kiválasztásához. Kísérletsorozatunkban négy mangalica kan spermamintáit hígítottuk hatféle spermahígítóval, majd 16 °C-on tárolva 24 óránként értékeltük a spermium motilitást. A vizsgálatainkhoz felhasznált kansperma hígítók:

1. Standard, 2. BTS, 3. MIII., 4. Vetapig, 5. Androhep, 6. Androhep Endura Guard. Az eltartási kísérletet négy ismételtesben végeztük el.

Az adatok elemzése során hígítókként rögzítettük azokat az időpontokat, amikor a minták motilitási értékei 60%-ra csökkentek. Az időpont értékek mediánjait vetettük össze az egyes hígítók közötti különbségek elemzésére, a statisztikai értékelés során Kruskal-Wallis ANOVA-t és Mann-Whitney U próbát alkalmazva.

A különböző hígítókkal kezelt spermamintákban eltérő időpontokban (medián) mértük a 60%-os spermium motilitási értéket: 1. hígító 110 h, 2. hígító 95,5 h, 3. hígító 34 h, 4. hígító 58 h, 5. hígító 42 h, 6. hígító 63 h. Legjobb eredményeket a Standard (1) és a BTS (2) hígítókkal értük el. Bár komoly eltérések mutatkoztak a különböző hígítókkal kezelt spermaminták motilitási eredményei között, a különbség egy esetben sem volt szignifikáns.

A here degenerációja, atrofíája a különböző állatfajokban régóta ismert, és többek szerint ez a leggyakoribb oka a sertés kanok infertilitásának. Több szerző egybehangzó véleménye, hogy bár az infertilitás, a spermakép és a here szövettani képe között nincs minden esetben szoros összefüggés, a szövettani vizsgálat mégis nélkülözhetetlen a folyamat felderítésére és az egyéb kóros elváltozások (hipoplázia, gyulladás, daganat, stb.) elkülönítésére. Vizsgálatainkban 27 mangalica kan hereszövettani vizsgálatát végeztük el. Ennek során az érintett kanok 33 %-ánál (9 állat) találtunk különböző fokú egyik, illetve mindkét herére kiterjedő degeneratív elváltozásokat. Összevetve a kísérleti kanok ivartalanítás előtt elvégzett GnRH-teszt, és a szövettani vizsgálat eredményeit feltételezhető, hogy összefüggés állhat fenn az exogén GnRH hatására bekövetkező tesztoszteron koncentráció emelkedés mértéke és a herék szövettani képe között. Az ép heréjű kanoknál 27 %-kal nagyobb volt a hormon koncentráció növekedés, mint a degenerált heréjű állatoknál. A lehetséges összefüggés igazolásához további vizsgálatok szükségesek.

Az ivari funkciók szezonális változásának tanulmányozásához a sperma kvantitatív és kvalitatív jellemzőinek – heti egy alkalommal történő- rendszeres vizsgálatán kívül minden évszakban mértük a heretér fogatokat, ezzel azonos időben

GnRh- tesztel vizsgáltuk a herék tesztoszterontermelő képességét.. A különböző évszakokban mért tesztoszteron alap koncentrációk értékei eltérőek voltak, de szignifikáns különbséget csak a nyári és az őszi mérési adatok között tapasztaltunk ($p=0,028$). A legmagasabb hormonszintet (medián érték) őszel ($23,41 \text{ nmol/l}$), a legalacsonyabbat nyáron ($11,00 \text{ nmol/l}$) mértük. A GnRh-val provokált ($T_{\text{incr.}}$) különböző évszakokban mért tesztoszteron hormonszintek között kisebb eltéréseket láttunk. Szignifikáns különbség ($p=0,007$) az őszi ($29,62 \text{ nmol/l}$) és tavaszi ($21,62 \text{ nmol/l}$) medián értékek között mutatkozott. A legnagyobb heretömeget ősszel (758 cm^3), legkisebbet télen (486 cm^3) regisztráltuk. Szignifikáns különbséget az őszi-téli ($p=0,012$) és az őszi-tavaszi ($p=0,015$) térfogatok között tapasztaltunk. A tesztoszteronkoncentráció (T_{alap} ill. $T_{\text{incr.}}$) és a heretérfogat közötti kapcsolat vizsgálatában szignifikáns összefüggést csak tavasszal láttunk a here- T_{alap} ($r=0,75, P<0,05$) ill. a here- $T_{\text{incr.}}$ ($r=0,77, P<0,05$) vonatkozásában. A spermajellemzők közül az ejakulátum mennyiség tekintetében az egyéves vizsgálat során csekély különbség mutatkozott a havi átlag értékek között. A legkisebb (júl. $163,5 \text{ ml}$) és a legnagyobb (jan. $183,7 \text{ ml}$) térfogat között mindössze 20 ml volt a különbség. Szignifikáns különbséget egyetlen esetben sem tapasztaltunk. A spermium-motilitási eredmények az ejakulátum mennyiséghez hasonló kiegyenlített képet mutatnak. Eredményeink szerint sem az ejakulátum mennyiség sem a spermium-motilitás esetében szezonális hatás nem volt kimutatható. A spermium koncentráció és az ejakulátumonkénti összes spermium vonatkozásában az intenzív fajtákétól eltérő magas értékeket kaptunk. A legalacsonyabb sejtszámot a nyári évszakban júliusban (összspermium 494×10^8) és augusztusban (spermiumkoncentráció/ml 291×10^6), a legmagasabbat januárban (összspermium 1076×10^8 , spermiumkoncentráció/ml 589×10^6) gyűjtött ejakulátumokban mértük. A jelentős mintegy kétszeres eltérés az egyedi különbségekből adódó magas szórás értékek miatt egyik esetben sem volt szignifikáns.

A kvalitatív spermajellemzők vizsgálatában a disztális plazmacseppek számában jelentős ingadozást figyeltünk meg - magas -októberben ($28,9\%$), decemberben ($28,7\%$) és áprilisban ($31,7\%$) mért csúcsértékekkel. Legkevesebb disztális plazmacseppet júliusban észleltünk ($4,63\%$). A proximális plazmacseppek, a spermiumfej rendellenességek és a spermium középrészét érintő elváltozások folyamatosan alacsony százalékban ($1-3\%$) jelentek meg az ejakulátumokban, szezonális ingadozást nem tapasztaltunk. A spermiumfarok rendellenességek esetében „kiugró” értékeket mértünk októberben és januárban de a legmagasabb — októberi — farokanómia arány sem haladta meg a 8% -ot. A többi hónapban $4,5\%$ alatt volt az összes farok elváltozások előfordulása. Az összesanómia átlagértéke egyik hónapban sem érte el a 10% -ot. A rendellenes spermiumokat legkisebb mértékben júliusban ($2,6\%$) a legnagyobb arányban januárban ($9,5\%$) tapasztaltuk. Mind a spermiumfarok, mind az összes spermiumanómia esetében a havi átlagértékek között mutatózó jelentős különbségek a már előzőekben említett egyedi eltérések miatt egy esetben sem voltak szignifikánsak.

Summary

The testicular endocrine function was investigated with GnRH treatment in 48 Mangalica boars. Blood samples were taken from each animal to determine basic testosterone levels. 90 minutes after iv. application of $100 \mu\text{g}$ GnRH a new blood-sampling was done to analyse hormone response. After the GnRH test animals were castrated and the volume of testes was measured. Statistical analysis showed a weak correlation between age and basic testosterone level ($r = 0,13$, and $0,15$ in the sexually mature and fully mature groups, respectively, $P>0,05$) and between age and testosterone level increase ($r = -0,27$, and $-0,11$, $P > 0,05$). There was a moderately strong correlation between age and testis volume as well as between live weight and testis volume ($r = 0,51$, $P < 0,05$ and $r = 0,57$, $P < 0,05$ in the sexually mature group; $r = 0,44$, $P<0,05$ and $r = 0,40$, $P<0,05$ in the fully mature group). Negative correlation was found between basic testosterone level and testosterone level increase ($r = -0,79$, $P < 0,05$ in the sexually mature group; $r = -0,49$, $P<0,05$ in the fully mature group), nevertheless in contrast to some earlier publications weak correlation was detected between testis volume and T_b and $T_{\text{incr.}}$ respectively.

The effect of age, live weight, testis volume and T_b as independent factors was investigated on $T_{\text{incr.}}$. The combination of these factors had a high effect on the level of testosterone increase.

Altogether 221 ejaculates were included into the trial to determine quantitative and qualitative semen parameters of fresh ejaculate from native Hungarian Mangalica boars. It was observed lower semen volume ($177,8 \pm 18,92 \text{ ml}$), but higher mean concentration ($490 \pm 160 \times 10^6$ spermatozoa/ml) and mean number of sperm cells per ejaculate ($894 \pm 308,1 \times 10^8$) compared to modern swine breeds. Higher semen volume than 200 ml was measured only once during the whole experimental period. A high sperm motility was observed in all samples ($75,52 \pm 6,78 \%$). Acrosomal defects, which occurred during transportation and preservation of the semen. Other severe and gender acrosomal anomalies like knobbed and bented acrosome was not observed in any samples. The categories proximal droplet, anomalies of sperm head and mid-piece were altogether $2,3\%$. Percent of abnormal spermatozoa was $5,76 \pm 2,20\%$, from which sperm cells with distal cytoplasmic droplets were excluded ($19,6 \pm 7,97\%$). Similarly high variance was observed in the percent of tails defects ($3,76 \pm 1,88\%$).

Several semen extenders were compared in semen preservation trials. Semen from four Mangalica boars were diluted with six extenders and stored at 16°C and sperm motility was checked in each 24 hours. The following semen extenders were tested 1. Standard, 2. BTS, 3. MIII., 4. Vetapig, 5. Androhep, 6. Androhep Endura Guard in 4 repetitions. During the data analysis time when motility percent reached 60% was registered in all extenders. The median values of these data were compared to determine differences with Kruskal-Wallis ANOVA and Mann-Whitney U tests.

The median values were the following 1. Standard 110 h, 2. BTS 95.5 h, 3. MIII 34 h, 4. Vetapig 58 h, 5. Androhep 42 h, 6. Androhep Endura Guard 63 h. The best result was obtained with Standard and BTS extenders. However high variations were observed in motility% between extenders, no significance differences were determined.

Degeneration and atrophy of the testes were described in several species, many authors opinion that this is the most frequent cause of infertility in boars too. Others found weak relation between infertility, spermiogramm and histology of the testes, nevertheless to clarify decreased reproductive ability or altered function of the testes (hypoplasia, inflammation, tumour etc) histological investigation is necessary. In our experiment 27 Mangalica boars were included. It was found degenerative alteration in one or both testis of 9 animals (33%). GnRh test were performed in all experimental boars before castration and a weak correlation could be detected between testosterone increase (GnRH response) and histological findings of the testes. The testosterone increase was 27% higher in boars with healthy testes than that had pathological alteration, however further investigation needed to confirm these findings.

Seasonal effect could be observed in pig semen quality to clarify these seasonal changes in Mangalica boars the alteration of testes volume, hormone and semen production, quantitative and qualitative parameters of the ejaculate were monitored in each season and/or weekly.

Basic testosterone concentrations were distinct in seasons, however significant difference was observed only between summer and autumn samples ($p=0.028$). The highest median value was measured in autumn (23.41 nmol/ml), and the lowest in summer (11.0 nmol/ml). The testosterone levels after GnRH injection were also diverse with smaller deviations. Significant difference were observed ($p=0.007$) between autumn (29.62 nmol/l) and spring (21.61 nmol/l) median values. Effect of seasonal changes was recorded on the volume of the testes too. The biggest value was registered in autumn (758 cm³), whilst the testes were smallest in winter (486 cm³). Significant difference in volume was found between autumn-winter ($p=0.012$) and autumn-spring ($p=0.015$) relation. The basic and induced testosterone levels were significantly correlated with testes volume in spring ($r=0.75$ and $r=0.77$; $p<0.05$). Among semen parameters only small monthly variation was noticed in mean ejaculate volume. The lowest volume was measured in July (163.5 ml), thus the highest one in January (183.7 ml). Significant difference was not found any time. Similar result was obtained in motility % of spermatozoa. No seasonal effect was indicated in both characteristics. Sperm concentration and total number of sperm cells per ejaculate were much higher than in modern commercial breeds. The lowest cell number was measured in July (494×10^8) and in August (296×10^6 /ml). The highest value was obtained in January (1076×10^8 and 589×10^6). However marked nearly two fold variation was observed, no significant difference could establish because of the high individual deviations. Among qualitative semen parameters marked fluctuation was observed in percent of distal plasma droplets with three peak values in October (28.9%), in december (28.7%) and in April (31.7%). The lowest level was recorded in July (4.63%). No seasonal changes was obtained in percent of proximal plasma droplet, sperm head and mid-piece anomalies (1-3%). The highest percent of tail alterations was measured in October and January, but it did not reach 8%. The mean value of tail defects was 4.5%. The incidence of different morphological defects remained under 10% during the investigation period (lowest in July with 2.6% and highest in January with 9.5%).

Pályázatunk célja a nemzeti értéknek tekintendő mangalica sertés andrológiai, szaporodás-élettani jellemzőinek feltárása a hatékonyabb szaporító és szaporodás-biológiai munka érdekében. Vizsgálatainkat az Olmos és Tóth Kft. Emőd-István majori sertéstelepén és az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézetben végeztük.

A célok elérése érdekében folytatott kutatás-fejlesztési tevékenységek és eredmények:

Mangalica kanok tesztikuláris endokrin működésének vizsgálata, reprodukciós szervek anatómiai paramétereinek felvétele

Kísérleteinkben 58 állaton végeztünk méréseket, majd az értékelés során a hiányos adatsorok kizárását követően 18 fecskehasú, 20 szőke és 10 vörös, összesen 48 mangalica kan adatait dolgoztuk fel. A 12 hónapnál fiatalabb állatokat ivarérettnek, a 12 hónapnál idősebb állatokat tenyészárettnek tekintettük, és az adatelemzések során külön kezeltük. Az életkor- és élő súly adatok felvétele után minden egyedről vérmintát gyűjtöttünk a tesztoszteron alapérték méréséhez. Ezt követően kanonként 100 µg GnRh-val (Fertagyl, Intervet) iv. kezeltük az állatokat. 90 perc elteltével újabb vérmintát vettünk a hormonkoncentráció meghatározásához. A hormonanalízist RIA módszerrel (Tesztoszteron RIA Kit, Izotóp Intézet Kft.) szérumból végeztük.

A második vérvételt követően az állatokat altatás alatt ivartalanítottuk. A műtéti narkózist 100 testsúly kg-onként 10 ml ketaminal (SBH-Ketamin, SelBrutta) és 4 ml xylazinnal (Xylavet, Lavet) intravénásan biztosítottuk. A mellékherék eltávolítása után mérőhengerben mértük a herék térfogatát.

A mért jellemzők között összefüggés-vizsgálatokat végeztünk, a statisztikai elemzéshez a Statistica 6.0 szoftvert (StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6.) használtuk. Az adatokat Spearman korrelációanalízissel, Kruskal-Wallis ANOVA-val, Mann-Whitney U-teszttel, illetve log transzformáció után többváltozós regresszióanalízissel értékeltük.

A vizsgálatokban résztvevő kanok mért paramétereinek medián, alsó és felső kvartilis értékeit, valamint az egyes változók genotípusok (fecskehasú-szőke-vörös) közötti szignifikáns eltéréseit az 1. és 2. táblázatokban foglaltuk össze.

1. táblázat

Az ivarérett kanok vizsgált paramétereinek medián értékei

Ivárett (<12 hó)	Kor (hó)	Élő súly (kg)	Heretér fogat (cm ³)	Tesztoszteron		
				Alap (nmol/l)	Provokált (nmol/l)	(Tincr%)
Fecske (n=6)	10 ^a (9,5; 11)	77,5 ^a (75; 80)	440 ^a (410; 510)	3,3 ^a (2,3; 4,2)	11,2 ^a (10,7; 11,5)	236,4 ^a (175,4; 359)
Szőke (n=3)	10,1 ^a (10; 11,8)	105 ^b (100; 110)	470 ^a (450; 480)	6,3 ^a (4,3; 9,9)	14,8 ^a (8,1; 15,2)	89,4 ^b (49,5; 140,5)
Vörös (n=4)	8,8 ^b (8,7; 9,3)	92,5 ^c (87,5; 95)	460 ^a (420; 570)	7,8 ^a (3,5; 15,5)	21,8 ^a (14,4; 34,5)	189,3 ^{ab} (113,9; 302)
Összes (n=13)	10 (9,2; 10,1)	85 (80; 95)	450 (420; 500)	4,3 (3,2; 8,2)	11,5 (10,7; 16,3)	175,4 (98,8; 248,8)

(az alsó és felső kvartilisek zárójelben. Az egyes genotípusok közötti szignifikáns eltérést (P<0,05 szinten) az eltérő felső indexek (a, b, c) jelölik.)

A tenyésztett kanok vizsgált paramétereinek medián értékei

Tenyésztett (>12 hó)	Kor (hó)	Élő súly (kg)	Heretér fogat (cm ³)	Tesztoszteron		
				Alap (nmol/l)	Provokált (nmol/l)	(Tincr%)
Fecske (n=12)	20,4 ^a (12,9; 23,9)	115 ^a (90; 160)	520 ^a (405; 625)	6,5 ^a (4,5; 11)	16 ^a (11,1; 19,4)	142 ^a (75,3; 187,9)
Szöke (n=17)	26,9 ^a (18,4; 45,5)	165 ^b (130; 180)	460 ^a (420; 600)	10,2 ^a (6,9; 16,1)	18,7 ^a (11,6; 28,3)	63,4 ^b (35,1; 107,6)
Vörös (n=6)	16,5 ^a (13,5; 21,3)	117,5 ^{ab} (100; 130)	595 ^a (520; 640)	12,2 ^a (7,17; 19,7)	17,5 ^a (14,9; 24,1)	49,9 ^b (22,8; 76,8)
Összes (n=35)	19,8 (13,9; 45,5)	130 (105; 170)	510 (420; 620)	9,1 (6,3; 15,7)	17,1 (11,13; 24,1)	67,6 (38,2; 130,9)

(az alsó és felső kvartilisek zárójelben. Az egyes genotípusok közötti szignifikáns eltérést (P<0,05 szinten) az eltérő felső indexek (a, b, c) jelölik)

A vizsgált jellemzők – életkor, élő súly, heretér fogat, tesztoszteron alap érték (T alap), GnRh kezelés utáni tesztoszteron emelkedés mértéke (T incr. %) – közötti összefüggéseket a 3. és 4. táblázatban Spearman korrelációs koefficiensek mutatják.

Az ivarérett kanok vizsgált paramétereinek között észlelt Spearman korrelációs koefficiensek (a vonatkozó P-értékek zárójelben).

Ivarérett (<12 hó)	Kor hó	Élő súly kg	Heretér fogat cm ³	T alap nmol/l	T incr %
Kor hó	-	0,30 (0,21)	0,51 (0,03)	0,13 (0,61)	-0,21 (0,41)
Élő súly kg		-	0,57 (0,01)	0,34 (0,17)	-0,34 (0,16)
Heretér fogat cm ³			-	0,02 (0,91)	0,24 (0,34)
T alap nmol/l				-	-0,79 (0,0001)
T incr %					-

4. táblázat

A tenyészárt kanok vizsgált paramétereinek között észlelt Spearman korrelációs koefficiensek (a vonatkozó P-értékek zárójelben).

Tenyészárt (>12 hó)	Kor hó	Élő súly kg	Heretér fogat cm ³	T alap nmol/l	T incr %
Kor hó	-	0,76 (0,000000)	0,44 (0,007)	0,15 (0,41)	-0,11 (0,53)
Élő súly kg		-	0,40 (0,02)	0,20 (0,28)	-0,20 (0,28)
Heretér fogat cm ³			-	0,08 (0,69)	0,23 (0,22)
T alap nmol/l				-	-0,49 (0,005)
T incr %					-

Gyenge összefüggést állapítottunk meg mind az ivarérett ($r = 0,13$, $P > 0,05$), mind a tenyészárt ($r = 0,15$, $P > 0,05$) állatok esetében az életkor és a tesztoszteron alapkonzentráció (T alap), valamint az életkor és a kezelés hatására bekövetkezett hormonszint emelkedés mértéke (T incr. %) között ($r = -0,27$, $P > 0,05$, illetve $r = -0,11$, $P > 0,05$). Azonos erősségű a kapcsolat az élő súly – T alap ($r = 0,34$ az ivarérett, $r = 0,20$ a tenyészárt csoportban, $P > 0,05$) és élő súly – T incr. % ($r = -0,34$ az ivarérett, $-0,20$ a tenyészárt csoportban, $P > 0,05$) vonatkozásában. Ezek az adatok azt mutatják, hogy az életkor előrehaladtával és az ezzel összefüggő élő súly-növekedéssel emelkedik a vér hormonszintje, és ez a relatíve magasabb tesztoszteron koncentráció kisebb mértékben változik a GnRh kezelés hatására.

Vizsgálatunkban, az ivarérett csoportban 450 cm^3 , a tenyészárt csoportban 510 cm^3 medián össz heretér fogatot mértünk. Az életkor és heretér fogat, valamint az élő súly és heretér fogat között közepesen erős összefüggést tapasztaltunk (az ivarérett csoportban $r = 0,51$, $P < 0,05$ és $r = 0,57$, $P < 0,05$; a tenyészárt csoportban $r = 0,44$, $P < 0,05$ és $r = 0,40$, $P < 0,05$).

A hazai és nemzetközi szakirodalomban közölt adatokkal ellentétben a mangalica sertésnél mind a here – T alap, mind a here – T incr. % kapcsolatban alacsony korrelációs értéket kaptunk, az összefüggés egyik esetben sem volt szignifikáns.

Szoros ($r = -0,79$, $P < 0,05$ ivarérett csoport), illetve közepesen szoros ($r = -0,49$, $P < 0,05$ tenyészárt csoport) negatív korrelációt állapítottunk meg a T alap – T incr % között, ami igazolja azt a megállapításunkat, hogy a magasabb tesztoszteron koncentráció kisebb mértékben emelkedik a GnRh kezelés hatására. Az életkor, élő súly, heretér fogat és a tesztoszteron alapérték – mint független változók – együttes hatását elemezve megállapítottuk, hogy a négy vizsgált jellemző a

tesztoszteron emelkedés mértékét jelentősen befolyásolja. Az általunk felállított többváltozós lineáris regressziós egyenlet ($\text{Log T incr \%} = 1,28 - 0,20 \text{ logkor} - 0,21 \text{ log súly} + 0,29 \text{ log here} - 0,58 \text{ log T alap}$, determinációs koefficiens: 0.61, $p < 0,0001$) szerint a vizsgált négy független változó a függő változó változásait 61 %-ban határozza meg, 39 % nem magyarázható a fenti modellel, ez más, általunk nem vizsgált tényezők hatásaira vezethető vissza.

Komplex spermatológiai vizsgálatok

Az őshonos fajták hasznosításában a termelékenység fokozásához elengedhetetlen a korszerű tartási, takarmányozási, szaporítási ismeretek alkalmazása. A tenyésztés hatékonyságát növeli az állatok tenyésztésbevitel előtti szelekciója, amit kanok esetében a legjobb termékenyítőképességű egyedek kiválasztásával kívánunk elérni. Ehhez szükséges az ivarszervek anatómiai paramétereinek ismerete, a spermaprodukciónak vizsgálata, az ejakulátum kvantitatív és kvalitatív jellemzőinek rendszeres ellenőrzése, a spermaeltarthatóság vizsgálata.

A komplex spermatológiai vizsgálatokat tenyésztett mangalica kanoktól gyűjtött ejakulátumokból végeztük. Vizsgálataink során összesen 221 ejakulátum kvantitatív és kvalitatív spermajellemzőit értékeltük. Eredményeink szerint a mangalica sertés esetében az ejakulátum volumen kisebb ($\bar{x}=177.8 \text{ ml}$, $s=18.92$), az átlagos spermiumkoncentráció ($490 \times 10^6/\text{ml}$, $s=160 \times 10^6/\text{ml}$) és az ejakulátumonkénti összes spermium (894×10^8 , $s=308,1 \times 10^8$) viszont jóval magasabb az intenzív sertésfajták azonos paramétereikhez képest. A friss ejakulátumok spermium-motilitási eredményei ($\bar{x}=75.6\%$, $s=6.78\%$), mint az alacsony szórásértékek is jelzik, az ejakulátum mennyiséghez hasonlóan kiegyenlített képet mutatnak. A spermium-morfológiai vizsgálatokban figyelmen kívül hagytuk a spermium akroszómájának azon rendellenességeit, amelyek a sperma szállítása, tárolása során keletkezhetnek. A tárolással nem összefüggő öröklődő, súlyos akroszóma rendellenességet (knobbed, ferde akroszóma) nem észleltünk egyetlen ejakulátumban sem. Vizsgálatunkban a proximális plazmacsepp, a spermiumfej- és középrész elváltozásokat alacsony előfordulási arányuk miatt összevontan kezeltük ($\bar{x}=2.3\%$). A termékenyítő képességet kevésbé veszélyeztető disztális plazmacseppek számában minden állatnál nagy eltéréseket, ingadozást tapasztaltunk ($\bar{x}=19.6\%$, $s=7.97\%$). A rendellenességet kisebb jelentősége miatt az összes spermium anomália átlagban ($\bar{x}=5.76\%$, $s=2.20\%$) nem szerepeltettük. Hasonló ingadozást tapasztaltunk – bár jóval alacsonyabb volt az előfordulási arány- a spermium farok anomáliák esetében is ($\bar{x}=3.76\%$, $s=1.88\%$), mint a magas szórás is mutatja.

Sperma eltarthatósági vizsgálatok különböző hígítókban

A mesterséges termékenyítéshez sperma eltarthatósági vizsgálatokban több különböző, a kereskedelmi forgalomba kapható spermahígító összehasonlító értékelését végeztük el a legjobb hígító kiválasztásához. Kísérletsorozatunkban négy mangalica kan spermamintáit 1:5 arányban hígítottuk hatféle spermahígítóval, majd 16 °C-on tárolva 24 óránként értékeltük a motilis spermiumok százalékos arányát. A vizsgálatainkhoz felhasznált kansperma hígítók:

1. Standard, 2. BTS, 3. MIII., 4. Vetapig, 5. Androhep, 6. Androhep Endura Guard. Az eltartási kísérletet négy ismétlésben végeztük el.

Az adatok elemzése során hígítókként ábrázoltuk (1. ábra) az egyes kanoktól származó spermaminták motilitásának változását a tárolási idő előrehaladtával. Rögzítettük azokat az időpontokat, amikor a minták motilitási értékei 60%-ra csökkentek (forgalmazhatóság küszöbértéke). Az időpont értékek mediánjait vetettük össze az egyes hígítók közötti különbségek elemzésére (2.ábra), a statisztikai értékelés során Kruskal-Wallis ANOVA-t és Mann-Whitney U próbát alkalmazva.

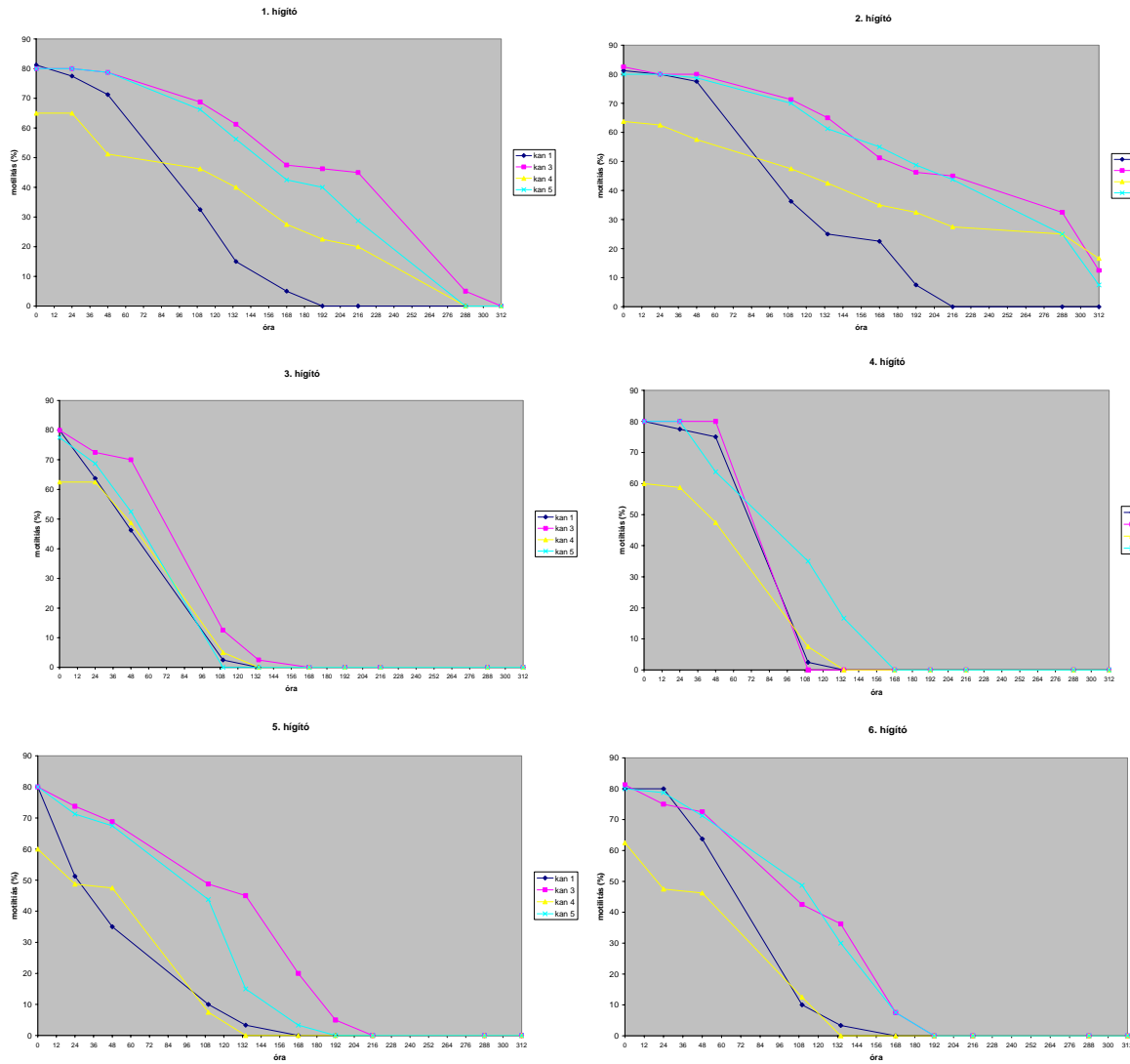
A különböző hígítókkal kezelt spermamintákban eltérő időpontokban (medián) mértük a 60%-os spermium motilitási értéket:

1. hígító 110 h, 2. hígító 95,5 h, 3. hígító 34 h, 4. hígító 58 h, 5. hígító 42 h, 6 hígító 63 h.

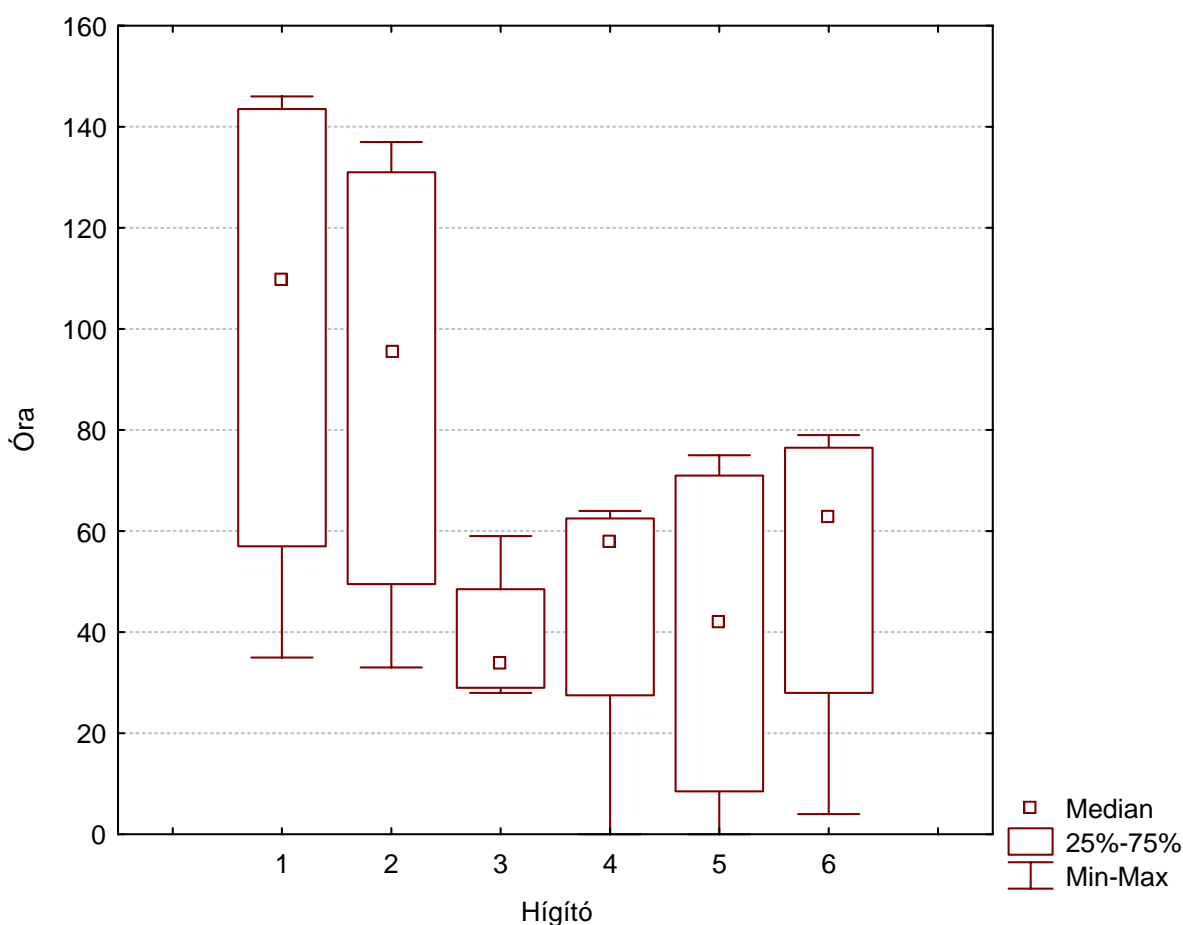
Legjobb eredményeket a Standard (1) és a BTS (2) hígítókkal értük el. Bár komoly eltérések mutatkoztak a különböző hígítókkal kezelt spermaminták motilitási eredményei között, a statisztikai értékelés eredménye szerint – valószínűleg a kis egyedszám miatt – a különbségek egyik esetben sem voltak szignifikánsak.

1. ábra

A spermium-motilitás változása a kísérleti kanok különböző hígítókkal kezelt spermamintáiban 16 °C-os tárolás során



A 60% spermium-motilitási érték elérésének időpontja (medián, alsó-felső kvartilisek, maximum, minimum értékek) a vizsgált hígítókban .



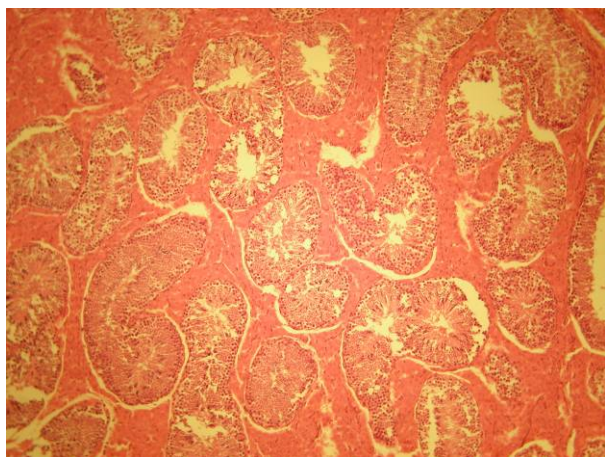
Here szövettani vizsgálatok

A here degenerációja, atrofíája a különböző állatfajokban régóta ismert, és többek szerint ez a leggyakoribb oka a sertéskanok infertilitásának. Több szerző egybehangzó véleménye, hogy bár az infertilitás, a spermakép és a here szövettani képe között nincs minden esetben szoros összefüggés, a szövettani vizsgálat mégis nélkülözhetetlen a folyamat felderítésére és az egyéb kóros elváltozások (hipoplázia, gyulladás, daganat, stb.) elkülönítésére. Vizsgálatainkban 27 mangalica kan hereszövettani vizsgálatát végeztük el. Vizsgálati eredmények:

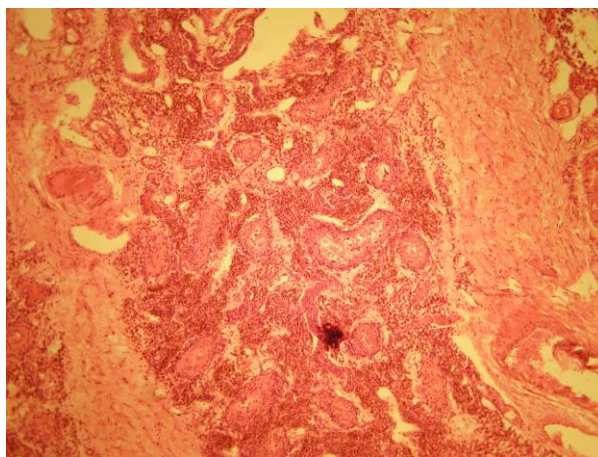
- Mindkét herében normál, megtartott szöveti struktúra, zavartalan spermatogenezis 18 állatban (1. kép).
- A bal here állományának kb. fele megtartott szöveti struktúra, zavartalan spermatogenezis, másik felében hegesedés, atrofia, kötőszövetes átépülés. Jobb oldalon ép állományú here, zavartalan spermatogenezis 1 állatban (2.kép).

- Egyik oldali herében normál, megtartott szöveti struktúra, zavartalan spermatogenezis, helyenként a peritubuláris tér (interstícium) kifejezett hipertrofizációja látható. A másik oldali herében normál megtartott szöveti struktúra, zavartalan spermatogenezis 2 állatban (3.kép).
- Jobb herében normál, megtartott szöveti struktúra, zavartalan spermatogenezis, helyenként kifejezett kötőszöveti elfajulás. Bal herében ép állomány, zavartalan spermatogenezis 1 állatban (4. kép).
- Bal herében normál szöveti struktúra, zavartalan spermatogenezis, helyenként hegesedés, kifejezett atrófia. A jobb herében ép állomány, zavartalan spermatogenezis 1 állatban (5.kép).
- Bal herében krónikus gyulladás, óriássejteket is tartalmazó granulációs sarjszövet, plazmasejtes infiltrációval. Jobb herében normál, megtartott szöveti struktúra, zavartalan spermatogenezis 1 állatban (6. kép).
- Mindkét herében normál szöveti struktúra, zavartalan spermatogenezis, enyhe, elszórt szöveti hipoxia jelei láthatók 1 állatban (7. kép).
- Jobb herében csírasejtes tumor (csírasejtes elfajulás, tubulusok eltűntek, helyüket csírasejtek foglalják el az interstícium között). Bal herében tumor megelőző állapot, intratubuláris csírasejtes neoplázia (az érintett tubulusok falát és lumenét csírasejtek töltik ki) 1 állatban (8.,9. kép).

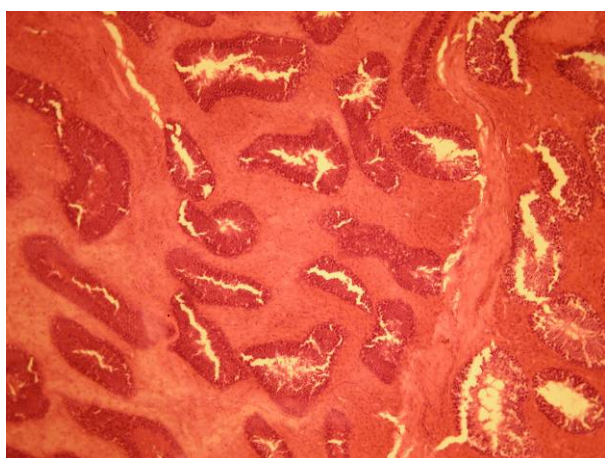
Mint a fenti eredmények mutatják a here-szövettani vizsgálatokban az érintett kanok 33%-ánál (9 állat) találtunk különböző fokú egyik, ill. mindkét herére kiterjedő degeneratív elváltozásokat. Összevetve a kísérleti kanok ivartalanítás előtt elvégzett GnRH –teszt, és a szövettani vizsgálat eredményeit, feltételezhető, hogy összefüggés állhat fenn az exogén GnRH hatására bekövetkező tesztoszteron koncentráció emelkedés mértéke és a herék szövettani képe között. Az ép heréjű kanoknál 27%-kal nagyobb volt a hormon koncentráció-növekedés, mint a degenerált heréjű állatoknál. A lehetséges összefüggés igazolásához további vizsgálatok szükségesek.



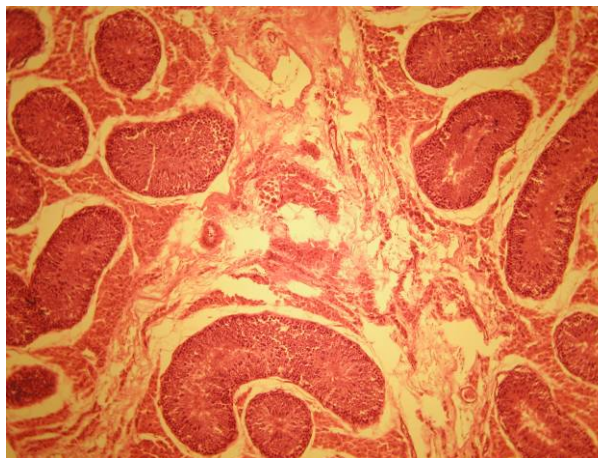
1. kép: 2J



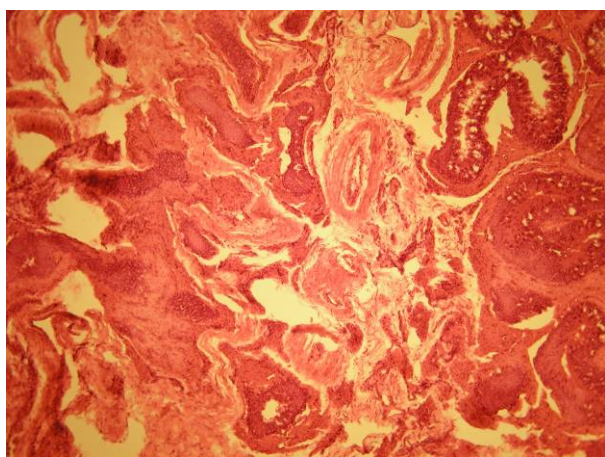
2. kép: 21B



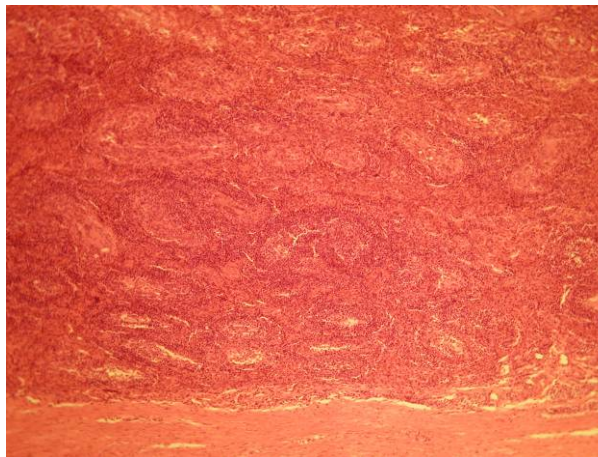
3. kép: 26B



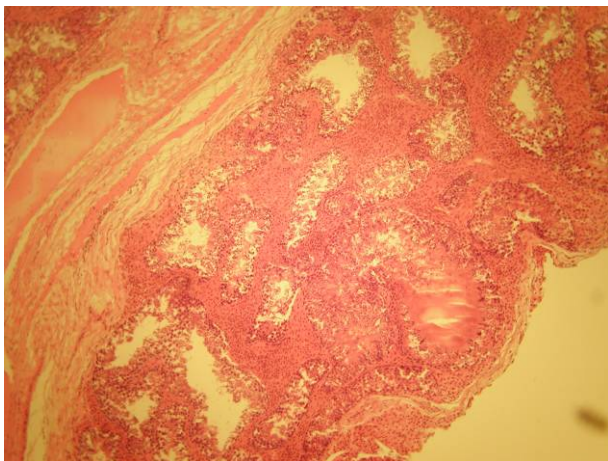
4. kép: 29J



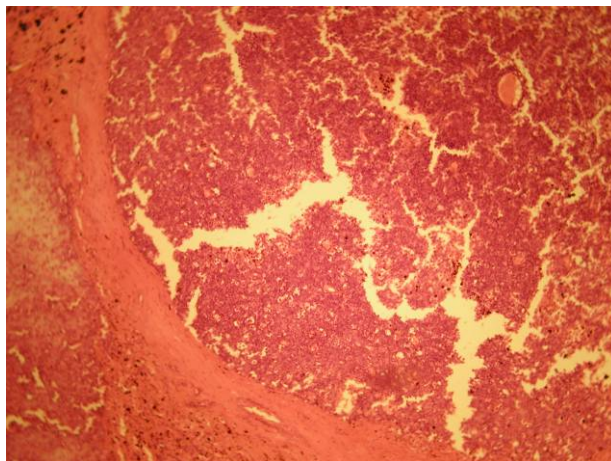
5. kép: 874B



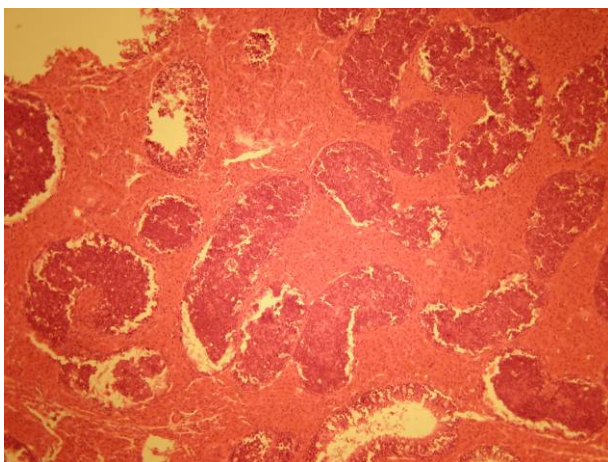
6. kép: 1621B



7. kép: 6J



8. kép: 9J



9. kép: 9B

Ivari funkciók szezonális változásának vizsgálata

Az évszak befolyásolhatja az ondó minőségét. Korábbi, intenzív fajtákon végzett vizsgálatok szerint nem lehet egyértelműen megállapítani, hogy Magyarországon melyik az az évszak, melyben következetesen gyengébb a spermaminőség. Valamilyen szezonális ingadozás megfigyelhető ugyan, de a mélypont nem esik következetesen az irodalomban is többször említett nyár végére és ősze. A szezonális ivari működést jelzi a herék térfogatának évszakonkénti változása is. A hereméretök összefüggésben állnak a spermatermelési mutatókkal, így a spermajellemzők és a hereméretök párhuzamosan folytatott rendszeres vizsgálatával képet kapunk a szezonális mértékéről.

A programunkhoz fiatal, 6-7 hónapos kanokat választottunk, egyedi elhelyezést és gyakori gondozói, inszeminátori jelenlétet biztosítva, hogy szokják az ember közelségét.

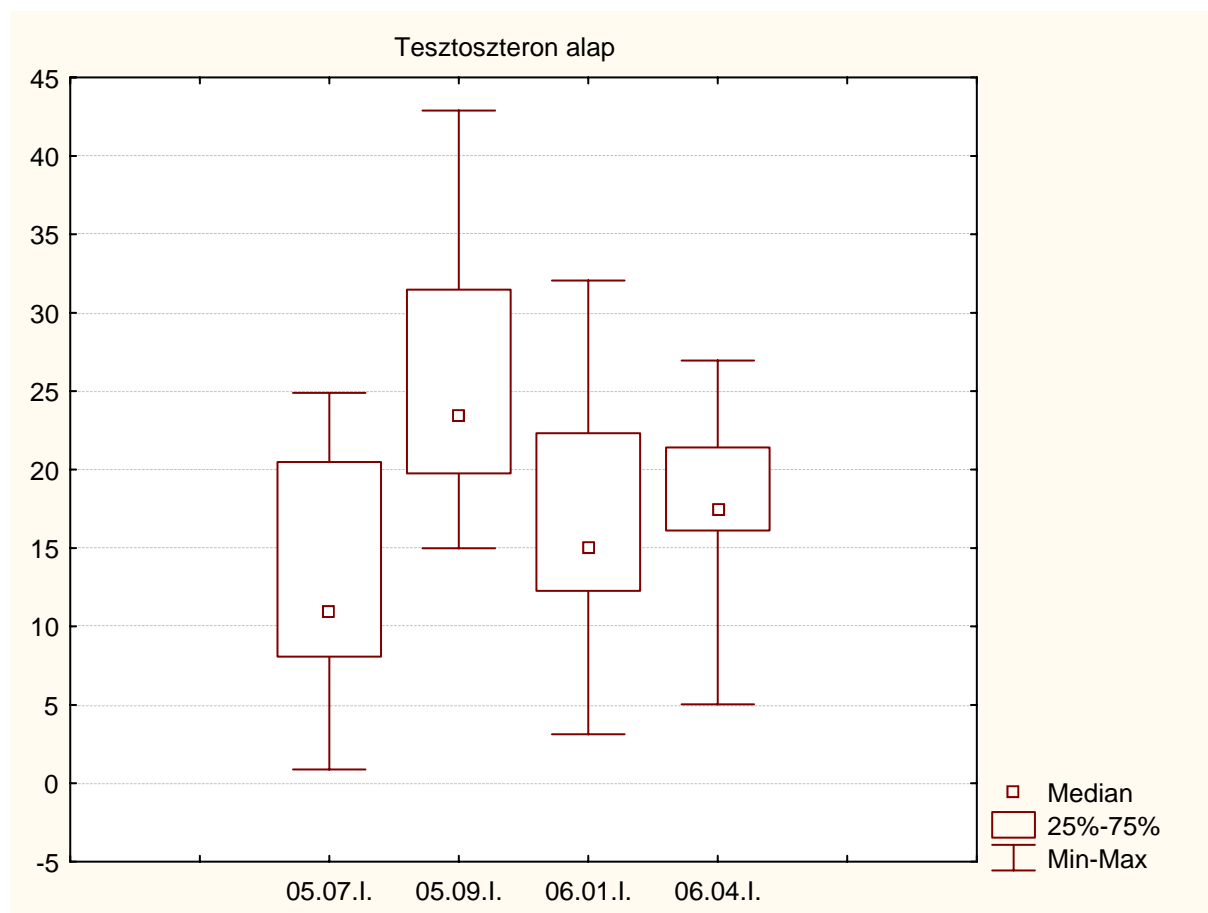
Az első értékelhető ejakulátumokat 13-14 hónapos életkorban, nyári időszakban gyűjtöttük. A sperma kvantitatív és kvalitatív jellemzőinek – heti egy alkalommal történő – rendszeres vizsgálatán kívül Toelle és Robison módszerével minden évszakban mértük a heretérfogatókat,

ezzel azonos időben GnRh- tesztel vizsgáltuk a herék tesztoszterontermelő képességét. Az adatokat Friedman ANOVA + Wilcoxon Matched Pairs tesztel és Spearman korreláció analízissel értékeltük.

A különböző évszakokban mért tesztoszteron alap koncentrációk értékei eltérőek voltak, de szignifikáns különbséget csak a nyári és az őszi mérési adatok között tapasztaltunk ($p=0,028$). A legmagasabb hormonszintet (medián érték) őszi (23,41 nmol/l) , a legalacsonyabbat nyáron (11,00 nmol/l) mértük (3.ábra). A GnRh-val provokált (T incr.%) különböző évszakokban mért tesztoszteron hormonszintek között kisebb eltéréseket láttunk. Szignifikáns különbség ($p=0,007$) az őszi (29,62 nmol/l) és tavaszi (21,62 nmol/l) medián értékek között mutatkozott (4. ábra).

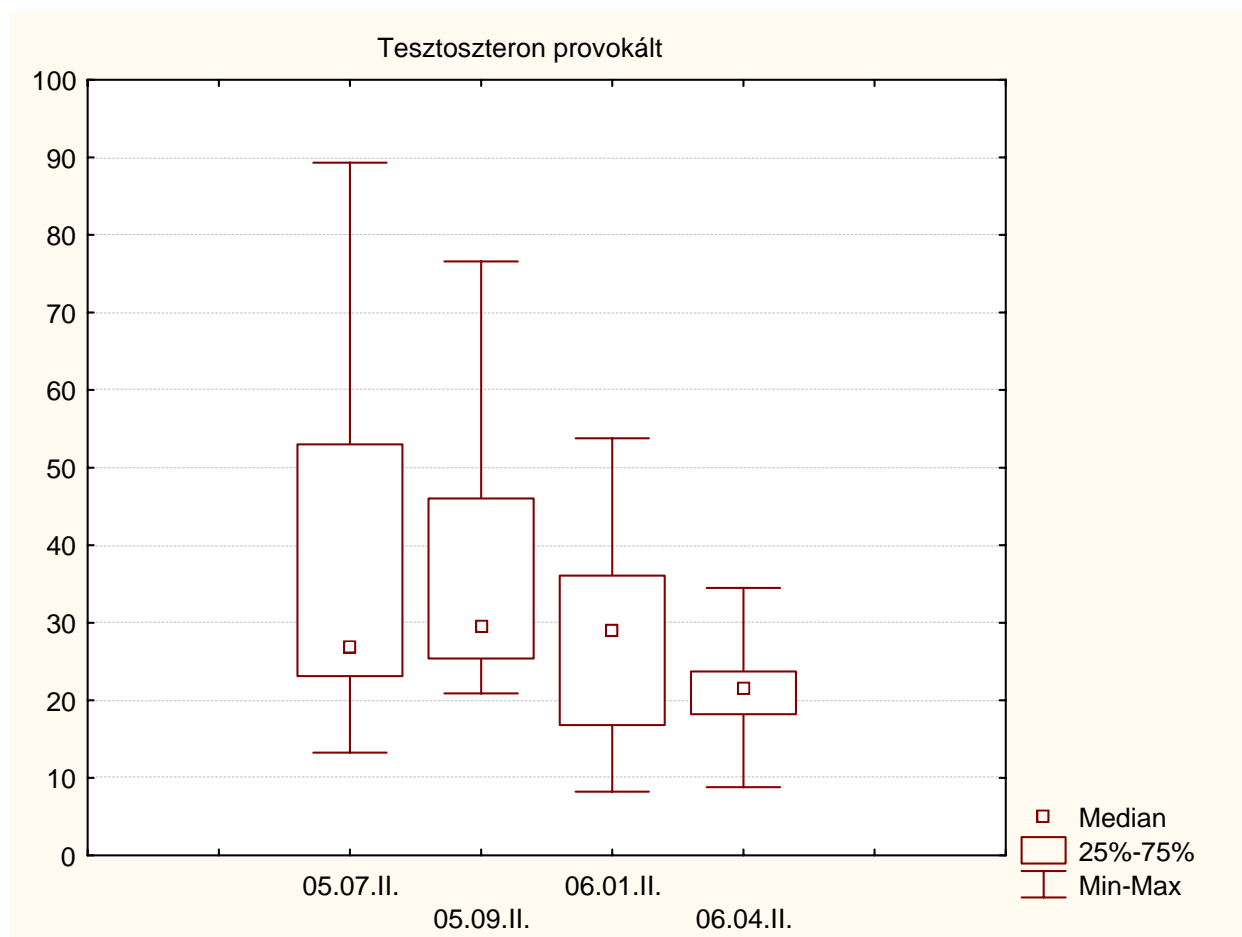
3. ábra

**A tesztoszteron alap (T alap) koncentráció évszacos medián értékei (nmol/l)
(n=9)**



évszak	medián	Alsó kvartilis	Felső kvartilis	minimum	maximum
05.07. nyár	11,00	8,07	20,49	0,89	24,89
05.09. ősz	23,41	19,76	31,47	14,98	42,89
06.01. tél	15,03	12,27	22,32	3,12	32,06
06.04. tavasz	17,40	16,12	21,41	5,03	26,96

**A provokált tesztoszteron (T incr.%) koncentráció évszakos medián értékei (nmol/l)
(n=9)**

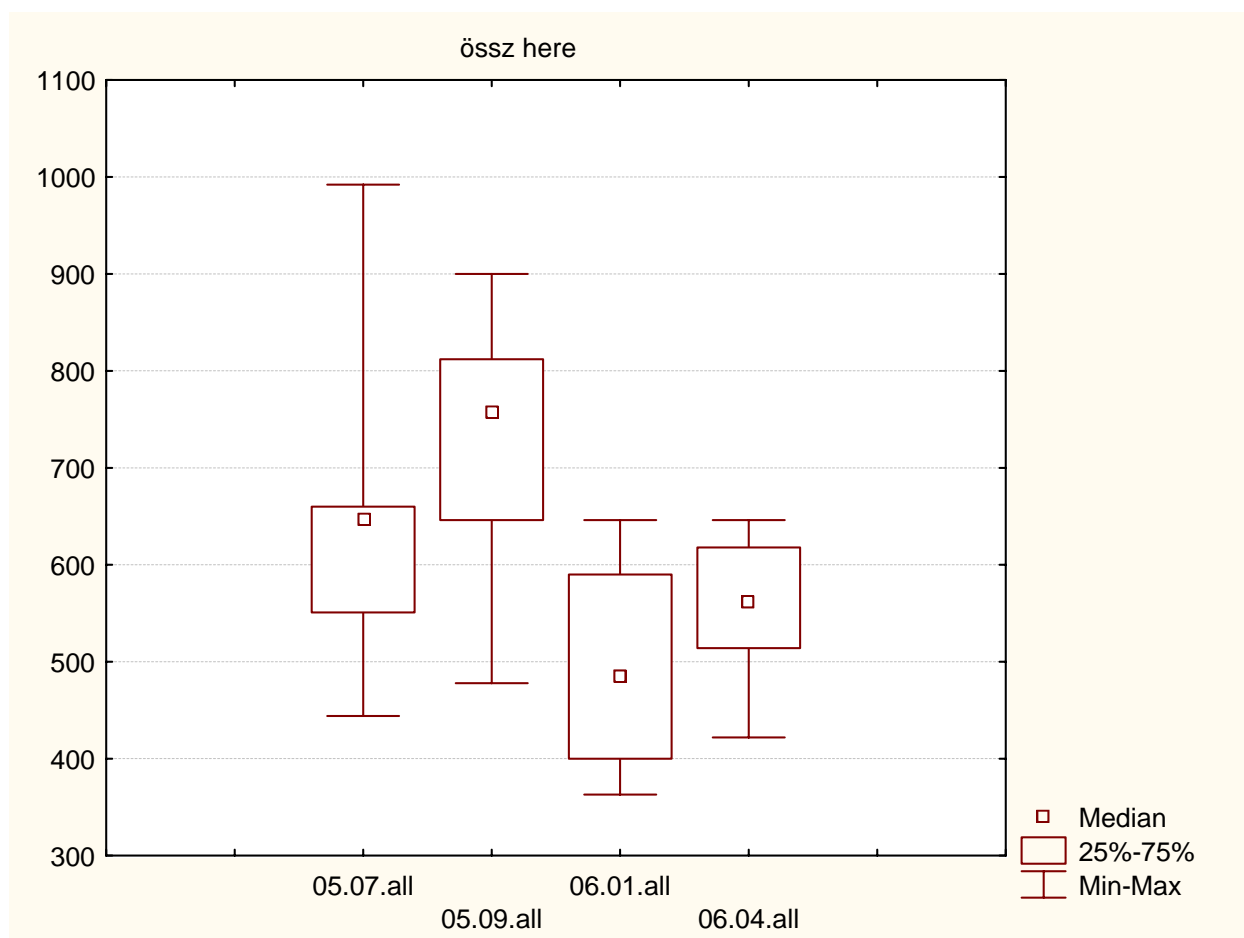


évszak	medián	Alsó kvartilis	Felső kvartilis	minimum	maximum
05.07. nyár	26,99	23,13	52,99	13,27	89,32
05.09. ősz	29,62	25,38	46,03	20,90	76,59
06.01. tél	29,08	16,82	36,08	8,22	53,78
06.04. tavasz	21,62	18,21	23,72	8,82	34,49

A heretérfogatok évszakos mérési eredményeit a 5. ábra mutatja. A legnagyobb heretömeget ősszel (758cm^3), legkisebbet télen (486cm^3) regisztráltuk. Szignifikáns különbséget az őszi-téli ($p=0,012$) és az őszi-tavaszi ($p=0,015$) térfogatok között tapasztaltunk.

A tesztoszteronkoncentráció (T alap ill. T incr.%) és a heretérfogat közötti kapcsolat vizsgálatában szignifikáns összefüggést csak tavasszal láttunk a here-T alap ($r=0,75, P<0,05$) ill. a here-T incr.% ($r=0,77, P<0,05$) vonatkozásában

**A heretérfogatok évszakos medián értékei (cm³)
(n=9)**

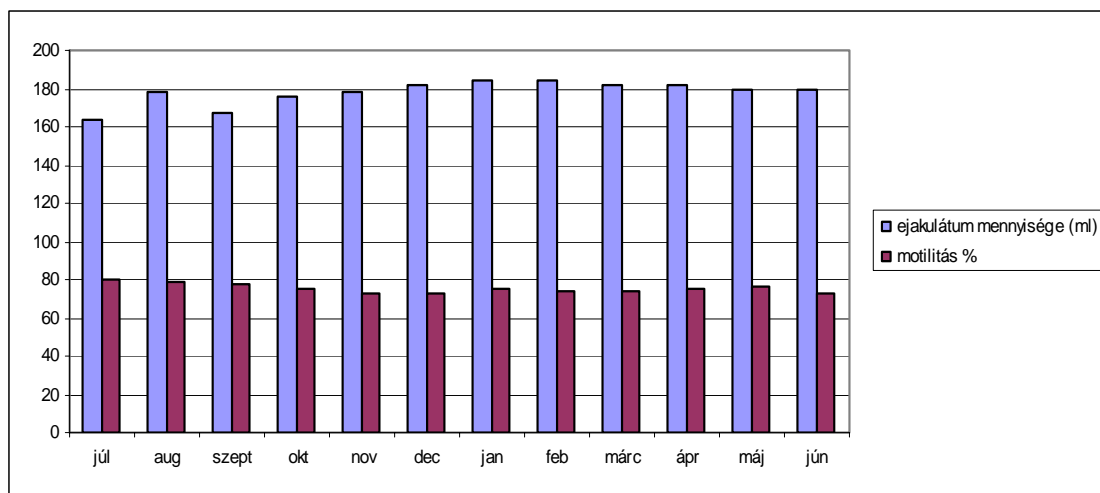


évszak	medián	Alsó kvartilis	Felső kvartilis	minimum	maximum
05.07. nyár	646	551	660	444	992
05.09. ősz	758	646	812	478	900
06.01. tél	486	400	590	363	646
06.04. tavasz	562	514	618	422	646

A spermajellemzők közül az ejakulátum mennyiség tekintetében az egyéves vizsgálat során csekély különbség mutatkozott a havi átlag értékek között. A legkisebb (júl. 163,5ml) és a legnagyobb (jan. 183,7ml) térfogat között mindössze 20ml volt a különbség. Szignifikáns különbséget egyetlen esetben sem tapasztaltunk (6. ábra).

A spermium-motilitási eredmények az ejakulátum mennyiséghez hasonló kiegyenlített képet mutatnak. Csak néhány százalékos eltérést láttunk a mozgó spermiumok havonkénti átlagértékei között. Eredményeink szerint sem az ejakulátum mennyiség sem a spermium-motilitás esetében szezonális hatás nem volt kimutatható.

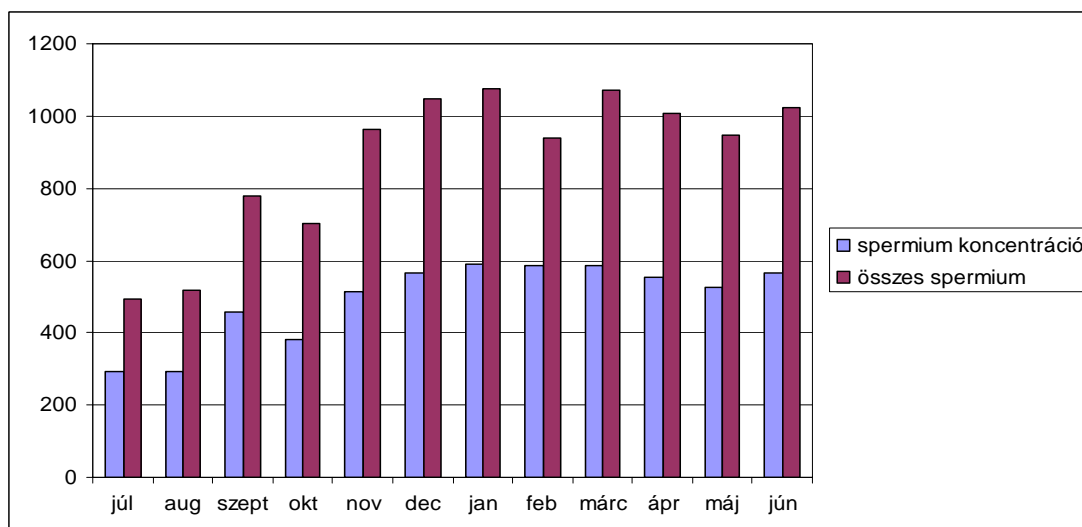
Az ejakulátum mennyiség és a spermium motilitás havi átlagértékei



Mind a spermium koncentráció, mind az összes spermium vonatkozásában az intenzív fajtákétól eltérő magas értékeket kaptunk. Mindkét paraméter esetében a legalacsonyabb sejtszámot a nyári évszakban júliusban (összspermium 494×10^8) és augusztusban (spermiumkoncentráció/ml 291×10^6), a legmagasabbat januárban (összspermium 1076×10^8 ! , spermiumkoncentráció/ml 589×10^6 !) gyűjtött ejakulátumokban mértük. A jelentős mintegy kétszeres eltérés az egyedi különbségekből adódó magas szórás értékek miatt egyik esetben sem volt szignifikáns (7. ábra).

A kvalitatív spermajellemzők vizsgálatában a termékenyítő képességet kevésbé befolyásoló disztális plazmacseppek számában jelentős ingadozást figyeltünk meg - magas –októberben (28,9%), decemberben (28,7%) és áprilisban (31,7%) mért csúcserkékel. Legkevesebb disztális plazmacseppet júliusban észleltünk (4,63%).

A spermiumkoncentráció és az ejakulátumonkénti összes spermium havi átlagértékei



spermium koncentráció ($\times 10^6$ /ml)

összes spermium ($\times 10^8$)

A proximális plazmacseppek, a spermiumfej rendellenességek és a spermium középrészt érintő elváltozások folyamatosan alacsony százalékban (1-3%) jelentek meg az ejakulátumokban, szezonális ingadozást nem tapasztaltunk.

A spermiumfarok rendellenességek esetében „kiugró” értékeket mértünk októberben és januárban de a legmagasabb — októberi — farokanomália arány sem haladta meg a 8% -ot. A többi hónapban 4,5% alatt volt az összes farok elváltozások előfordulása.

A spermium farkán disztálisan helyeződő plazmacsepp csak kis mértékben — egyes adatok szerint egyáltalán nem — befolyásolja az ondósejt termékenyítő képességét, ezért az összes spermiumanomália havonkénti változását e defektus nélkül értékeltük (8. ábra). Látható, hogy az összes anomália átlagértéke egyik hónapban sem érte el a 10% ot. A diagram alakját — a proximális plazmacseppek, a spermiumfej rendellenességek és a spermium középrész anomáliák kismértékű előfordulása miatt — a spermiumfarok elváltozások magasabb arányú jelenléte határozta meg szintén két — októberi és januári — „csúcserővel”. A rendellenes spermiumokat legkisebb mértékben júliusban (2,6%) a legnagyobb arányban januárban (9,5%) tapasztaltuk. Mind a spermiumfarok, mind az összes spermiumanomália esetében a havi átlagértékek között mutatkozó markáns különbségek a már előzőekben említett egyedi eltérések miatt egy esetben sem voltak szignifikánsak.

8. ábra

Az összes spermium anomália arányának havi átlagértékei disztális plazmacsepp nélkül

